

## 金属カチオン含有漢方エキス顆粒製剤とオフロキサシン同時懸濁時のキレート形成に関する基礎的検討

沼尻 幸彦<sup>1</sup> 鈴木 淳<sup>1</sup> 小林 正樹<sup>1</sup> 古地 壯光<sup>1</sup> 新津 勝<sup>1</sup> 秋山 滋男<sup>\*2</sup>

城西大学薬学部<sup>1</sup>, 東京薬科大学薬学部薬学実務実習教育センター<sup>2</sup>

(受付: 2018 年 5 月 28 日 受理: 2018 年 7 月 31 日)

**要 旨:** カルシウムを含有する竜骨や牡蛎を生薬の成分として含む漢方薬である柴胡加竜骨牡蛎湯エキス顆粒製剤, 桂枝加竜骨牡蛎湯エキス顆粒製剤とキノロン系抗菌剤であるオフロキサシンとの相互作用について, 患者へ投薬する際の同時懸濁の条件下において検討を行った. 対象となる漢方薬とオフロキサシンを同時懸濁 10 分後, 60 分後, 120 分後にクロロホルムを使用して抽出し, オフロキサシンの未変化体の濃度を測定した. その結果, これらの漢方薬とオフロキサシンとの同時懸濁で, オフロキサシンの未変化体の濃度の低下が認められた. これは, オフロキサシンがこれらの漢方薬に含まれるカルシウムとキレートを形成したことによるものと示唆された. カルシウムを含有している竜骨, 牡蛎等を生薬の成分として含む漢方薬は, キノロン系抗菌剤とキレートを形成することによって薬物間相互作用を引き起こし, 抗菌効果が低下することが示唆された.

**キーワード:** オフロキサシン, 漢方薬, 竜骨, 牡蛎, カルシウム, マグネシウム

### 緒 言

漢方薬は主に慢性疾患に使用されることが多く, その処方頻度は年々増加傾向にある. 2011 年度の医師を対象とした調査報告<sup>1)</sup>では, 漢方薬と西洋薬との併用による治療は 82.9%と, 漢方薬と西洋薬の併用が多いことが示されている. この報告からも, 医師や薬剤師は, 漢方薬と西洋薬との薬物間相互作用について処方時, 投薬時に確認する必要がある. 漢方薬と西洋薬の相互作用の報告に, 大黃やセンナの成分であるセンノシドや甘草の成分であるグリチルリチンなどの配糖体と抗菌薬との併用において, これらの成分を含有する漢方薬の薬効を低下させ, 薬効が得られない可能性があることを報告している<sup>2)</sup>. また, 石膏を多く含む白虎加人参湯エキス顆粒とテトラサイクリンをラットおよびヒトに同時に経口投与するとテトラサイクリンの血漿濃度が低下することが報

告されている<sup>3)</sup>. この作用機序には, 白虎加人参湯エキス顆粒含有成分の石膏由来の  $\text{Ca}^{2+}$  が要因であることを示している. 石膏以外には竜骨, 牡蛎などの生薬にも多量の  $\text{Ca}^{2+}$  が含まれており, これがキノロン系抗菌剤とキレート形成し薬物動態に影響を及ぼす可能性が考えられる. 白虎加人参湯エキス顆粒と同様に,  $\text{Ca}^{2+}$  を含有する生薬の牡蛎を含む漢方薬の柴胡加竜骨牡蛎湯エキス顆粒および桂枝加竜骨牡蛎湯エキス顆粒も, テトラサイクリン系抗菌剤およびキノロン系抗菌剤との相互作用を示す可能性があるが, これらについての調査報告はない.

そこで, 今回, キノロン系抗菌剤であるオフロキサシンと柴胡加竜骨牡蛎湯エキス顆粒および桂枝加竜骨牡蛎湯エキス顆粒を *in vitro* の同時懸濁した条件下での未変化体オフロキサシン量の変動について検討した.

\*〒192-0392 東京都八王子市堀之内 1432-1 Tel: 042-676-5189 E-mail: sakiyama@toyaku.ac.jp

Table 1 オフロキサシンの HPLC 測定条件<sup>9)</sup>

オフロキサシン	
検出器	紫外吸光度計 (280 nm)
カラム	オクタデシルシリカゲル (C18φ4.6 mm×150 mm)
カラム温度	45℃
移動相	リン酸緩衝液 (pH 3.5, 60 mmol/L) : メタノール (6 : 4)
流速	1.0 mL/min

## 方 法

### 1. 試薬

ツムラ柴胡加竜骨牡蛎湯エキス顆粒, ツムラ桂枝加竜骨牡蛎湯エキス顆粒, オフロキサシン錠 100 mg (第一三共) は市販品を購入した. そのほか酸化マグネシウム, 炭酸カルシウム, クロロホルム (試薬特級) を使用した (和光純薬工業).

### 2. 試料の調製

キレートを形成したオフロキサシンが水層へ分配する報告があることから<sup>4,6)</sup>, オフロキサシン水溶液に対象となる漢方薬を添加した後, クロロホルムを加えて分液し, 各層に存在するオフロキサシンを定量することにより, キレート形成量を見積もった. すなわち, 40 µg/mL オフロキサシン水溶液 50 mL に, 漢方薬の柴胡加竜骨牡蛎湯エキス顆粒 2.5 g, あるいは, 桂枝加竜骨牡蛎湯エキス顆粒 2.5 g, または, 漢方薬に含有されるカルシウム, マグネシウムに相当する炭酸カルシウムあるいは酸化マグネシウム量<sup>7,8)</sup>を加え懸濁させた後, いずれかの懸濁液 20 mL を 50 mL 遠沈管に入れて一定時間 (10 分, 60 分, 120 分) 室温で放置した. 一定時間放置後, メンブランフィルターを用いて濾過し得られた濾液を試料溶液とした. いずれかの試料溶液を 2 mL 取り, 遠心分離 (3000 rpm, 10 分) を行った. 遠心分離後の上清にクロロホルム 2 mL を加え, 10 分間攪拌をした後, 2 分間遠心分離を行い, 分離したクロロホルム層中のオフロキサシンを定量した. クロロホルム層中のオフロキサシンは, クロロホルム層を蒸発乾固後, 精製水 2 mL を加え十分に攪拌した後, オフロキサシン量を定量した. なお, 柴胡加竜骨牡蛎湯エキス顆粒, 桂枝加竜骨牡蛎湯エキス顆粒に含有されるカルシウム量が 14.4 mg, 15 mg, マグネシウム量が 4.8 mg, 2.87 mg であることから, 炭酸

カルシウムあるいは酸化マグネシウム添加量を設定した.

### 3. オフロキサシンの HPLC 測定条件

オフロキサシンの HPLC 測定条件を Table 1 に示す<sup>9)</sup>. 主薬の定量は絶対検量線法により行い, 原点を通る良好な直線が得られた ( $r=0.999$ ). なお, 今回用いた試料調製ならびに測定において, 懸濁液に含まれる主薬量は, ほぼ全量回収可能であった.

### 4. 統計解析

得られた測定結果はすべて平均 ± 標準偏差で表記し, 多群間の比較では Dunnett 検定を適用した. なお有意水準は 5% 未満とし,  $P<0.05$  を統計学的に有意差ありとした.

## 結 果

回収率は Table 2 に示す. オフロキサシン水溶液に柴胡加竜骨牡蛎湯エキス顆粒を同時懸濁した 0 分値 (control) として, 10 分後のクロロホルム層中の未変化体オフロキサシンの量は  $1392.3 \pm 241.1$  µg, 懸濁 60 分後, 120 分後では, それぞれ  $1286.6 \pm 20.4$  µg,  $1284.5 \pm 42.8$  µg と経時的に低下傾向が認められたが control との有意な差は認められなかった (Fig. 1). また, オフロキサシン水溶液に桂枝加竜骨牡蛎湯エキス顆粒を同時懸濁した, クロロホルム層中の未変化体オフロキサシン量は, 0 分値 (control) と比較して 10 分後が  $1422.8 \pm 168.2$  µg, 60 分後, 120 分後では  $1345.5 \pm 52.7$  µg,  $1305.3 \pm 93.6$  µg と経時的に低下傾向が認められたがいずれも control との有意な差は認められなかった (Fig. 2). 次に, 柴胡加竜骨牡蛎湯エキス顆粒, 桂枝加竜骨牡蛎湯エキス顆粒にそれぞれに含有されている金属相当量とオフロキサシン水溶液との同時懸濁の検討を行った. 柴胡加竜骨牡蛎湯エキス顆粒相当量のカルシウム 14.4 mg の同時懸濁の場合, クロロホルム層中の未変化体オフロキサシン量は,

Table 2 各漢方薬中のオフロキサシンの回収率

懸濁時間 (min)	control	10	60	120
柴胡加竜骨牡蛎湯	94.1±0.1%	94.1±0.1%	89.1±0.1%	87.9±0.1%
桂枝加竜骨牡蛎湯	94.1±0.1%	88.4±0.1%	85.1±0.1%	82.0±0.1%
カルシウム 14.4 mg	94.1±0.1%	88.3±0.1%	89.8±0.0%	88.7±0.0%
カルシウム 15 mg	94.1±0.1%	99.0±0.1%	91.3±0.0%	92.0±0.0%
マグネシウム 4.8 mg	94.1±0.1%	85.9±0.1%	83.5±0.0%	89.3±0.1%
マグネシウム 2.87 mg	94.1±0.1%	91.8±0.0%	91.6±0.0%	89.0±0.0%

mean±S.D. (n=3)

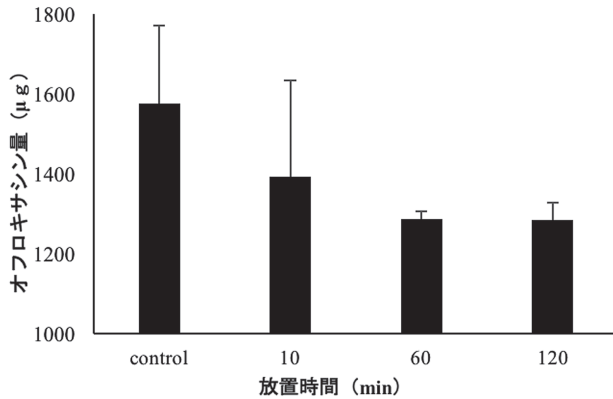


Fig. 1 柴胡加竜骨牡蛎湯とオフロキサシン同時懸濁におけるクロロホルム層中のオフロキサシン未変化体量

mean±S.D. (n=3)

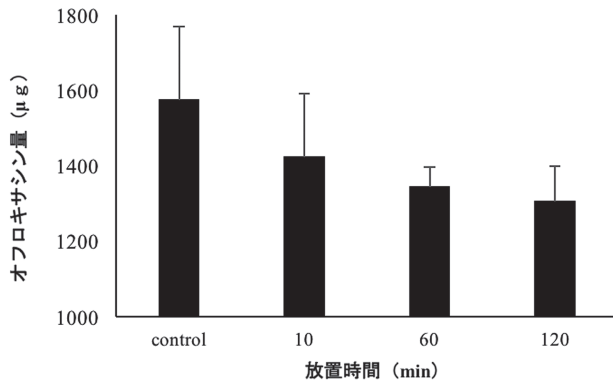


Fig. 2 桂枝加竜骨牡蛎湯とオフロキサシン同時懸濁におけるクロロホルム層中のオフロキサシン未変化体濃度

mean±S.D. (n=3)

10 分後 1364.2±76.6 μg であり、有意な差は認められなかったが、60 分後 1283.5±42.5 μg と 120 分後では 1232.0±75.2 μg と有意な差が認められた (Fig. 3)。桂枝加竜骨牡蛎湯エキス顆粒相当量のカルシウム 15 mg においても、クロロホルム層中の未変化体オフロキサシン量は、control と比較して 10 分後 1564.5±160.3 μg、60 分後 1300.3±14.3 μg、120 分後は 1269.7±36.3 μg と経時的に低下傾向

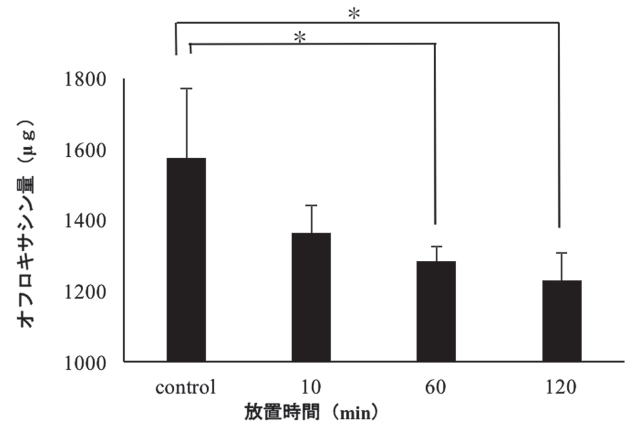


Fig. 3 オフロキサシン水溶液に柴胡加竜骨牡蛎湯相当量のカルシウム 14.4 mg を加えた時のクロロホルム層中のオフロキサシン未変化体濃度

mean±S.D. (n=3)

\* P<0.05, control との比較 (Dunnett's test)

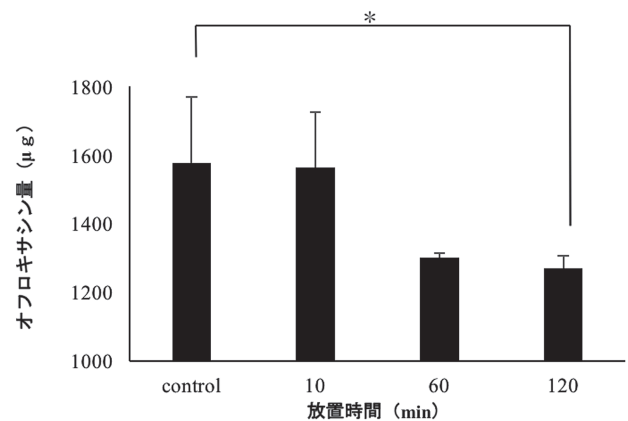


Fig. 4 オフロキサシン水溶液に桂枝加竜骨牡蛎湯相当量カルシウム 15 mg を加えた時のクロロホルム層中のオフロキサシン未変化体濃度

(mean±S.D.) n=3

\* P<0.05, control との比較 (Dunnett's test)

を示し 120 分後で control との有意な差を認めた (Fig. 4)。酸化マグネシウムとの同時懸濁において、クロロホルム層中の未変化体オフロキサシン量は、柴胡加竜骨

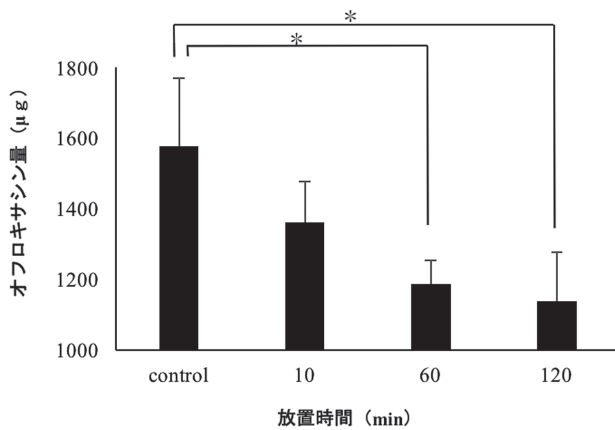


Fig. 5 オフロキサシン水溶液に柴胡加竜骨牡蛎湯相当量マグネシウム 4.8 mg を加えた時のクロロホルム層中のオフロキサシン未変化体濃度

mean±S.D. (n=3)

\* P<0.05, control との比較 (Dunnett's test)

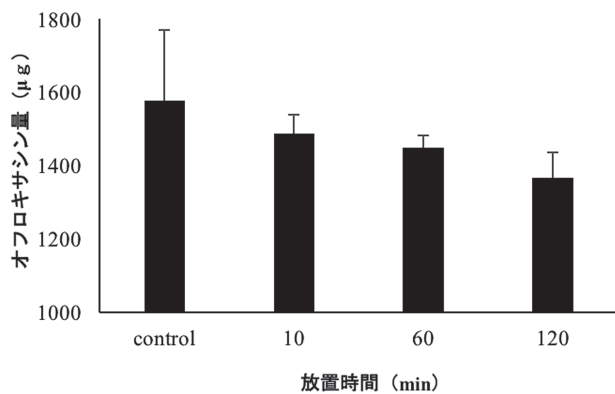


Fig. 6 オフロキサシン水溶液に桂枝加竜骨牡蛎湯相当量マグネシウム 2.87 mg を加えた時のクロロホルム層中のオフロキサシン未変化体濃度

mean±S.D. (n=3)

牡蛎湯エキス顆粒相当量マグネシウム 4.8 mg において, control と比較して 10 分後  $1361.4 \pm 114.6 \mu\text{g}$ , 60 分後  $1188.7 \pm 65.0 \mu\text{g}$ , 120 分後では  $1139.3 \pm 137.9 \mu\text{g}$ , 60 分後, 120 分後で有意な差を認めた (Fig. 5). 一方, 桂枝加竜骨牡蛎湯エキス顆粒相当量のマグネシウム 2.87 mg における未変化体オフロキサシン量は, control と比較して 10 分後  $1487.4 \pm 51.8 \mu\text{g}$ , 60 分後  $1448.7 \pm 34.7 \mu\text{g}$ , 120 分後では  $1365.8 \pm 69.3 \mu\text{g}$  であり, 経時的に低下傾向を示したが control との有意な差は認められなかった (Fig. 6).

## 考 察

2008 年と比較して, 2011 年の調査報告では, 漢方薬を使用している医師の割合が 83.5% から 89% と増加

し, さらに, 西洋薬との併用の割合についても 79.8% から 82.9% と増加している<sup>1)</sup>. 漢方薬は慢性疾患に使用される場合も多い. また, 漢方薬は服薬コンプライアンスの観点から, 添付文書上は食前あるいは食間での服用指示であるものの, 実際には食後に服用することも少なくない. 経管投与や経口で嚥下に問題がある場合には, 漢方薬と他の薬剤を同時に懸濁させて投与する場合もある<sup>10)</sup>. したがって, 漢方薬と西洋薬の相互作用に注意する必要がある.

今回, 検討した柴胡加竜骨牡蛎湯エキス顆粒は神経障害や小児のてんかんの治療に使用される. 桂枝加竜骨牡蛎湯エキス顆粒は, 精神不安や不眠, イライラ, ストレスを軽減する目的に使用される. いずれの漢方薬も長期にわたり服用することが多い.

これらの漢方薬は竜骨や牡蛎が含有されているため  $\text{Ca}^{2+}$  を多く含んでいる.  $\text{Ca}^{2+}$  を多く含有する生薬には石膏があり, 石膏を多く含有する白虎加人参湯エキス顆粒はテトラサイクリン系抗菌剤との相互作用を示し,  $\text{Ca}^{2+}$  と抗菌剤がキレートを形成することで抗菌剤の血漿濃度を低下させるため, 同時服用は避けることが提言されている<sup>3)</sup>. しかしながら,  $\text{Ca}^{2+}$  を多く含有する竜骨や牡蛎を含む漢方薬については, 西洋薬との相互作用についての調査報告はない.

Tanaka ら, および Nakano らの報告ではキノロンと金属カチオンの間でのキレート形成によるキノロンの有機相への移行量が低下, すなわち, キレート形成したキノロンがクロロホルム層へ移行しにくいことを報告している<sup>5, 6)</sup>. また, オフロキサシンの分配係数がクロロホルム-0.1 mol/L リン酸緩衝液で 4.95 と高値であること<sup>11)</sup>, 解離定数 (5.74, 7.90) から両性イオン (いわゆる分子型) の割合を算出すると本実験の pH の範囲は変動がもっとも少ない領域であること等から, 本結果のクロロホルム層への分配濃度は未変化体オフロキサシンの量を反映していると考えられる.

オフロキサシンと柴胡加竜骨牡蛎湯エキス顆粒および桂枝加竜骨牡蛎湯エキス顆粒との同時懸濁後の未変化体オフロキサシン量はいずれの漢方薬においても 10 分後, 60 分後, 120 分後でわずかな変化であり control との有意な差は認められなかったものの, 未変化体オフロキサシン量の低下が認められ, これらの漢方薬中の  $\text{Ca}^{2+}$  および  $\text{Mg}^{2+}$  がオフロキサシンとキレート形成したことによ



るものと考えられた。Ca<sup>2+</sup>は、柴胡加竜骨牡蛎湯エキス顆粒には1包2.5g中に14.4mg、桂枝加竜骨牡蛎湯エキス顆粒には1包2.5g中に15mg含まれ、Mg<sup>2+</sup>は、柴胡加竜骨牡蛎湯エキス顆粒には1包2.5g中に4.8mg、桂枝加竜骨牡蛎湯には1包2.5g中に2.87mg含まれている。それぞれ金属カチオンとオフロキサシンとの同時懸濁での未変化体オフロキサシン量は、柴胡加竜骨牡蛎湯エキス顆粒相当量のカルシウム14.4mgにおいて、controlと比較し60分後と120分後で未変化体オフロキサシン量が有意に低下した。また、桂枝加竜骨牡蛎湯エキス顆粒相当量のカルシウム15mgの経時変化では120分後でcontrolとの有意な差を認めた。酸化マグネシウムの同時懸濁においては、柴胡加竜骨牡蛎湯エキス顆粒相当量のマグネシウム4.8mgではいずれも時間の経過に伴って低下し、60分後、120分後で有意に未変化体オフロキサシン量が低下した。いずれの金属カチオンもこれらの漢方薬とキレートを形成している可能性が高い。したがって、柴胡加竜骨牡蛎湯エキス顆粒や桂枝加竜骨牡蛎湯エキス顆粒はキノロン系抗菌剤と同時に懸濁し60分以上放置する場合には、相互作用を引き起こし抗菌効果が弱まる可能性が考えられるため、同時に懸濁する場合には、短時間での懸濁が推奨される。

漢方薬は薬物間相互作用として報告があるものに安中散によるチトクロームP450を介した相互作用<sup>12)</sup>や、小柴胡湯とトルブタミドの消化管吸収での相互作用等がある<sup>13)</sup>。しかしながら、西洋薬との相互作用の注意喚起として、添付文書やインタビューフォーム(IF)に記載があるものは小柴胡湯、麻黄湯、半夏瀉心湯等に限られている。前述の石膏を含有しているCa<sup>2+</sup>とテトラサイクリン系抗菌剤と相互作用を引き起こすことが報告されている白虎加人参湯の添付文書およびIFには、これらの相互作用の記載はない。今回、検討した漢方薬はオフロキサシンの添付文書中の相互作用に注意が書かれている炭酸カルシウム製剤や酸化マグネシウム製剤、あるいは牛乳やヨーグルトなどに含まれる食事由来の金属カチオンの量と比べて、金属カチオンの含有量は少ない。本結果を考慮すると、石膏、竜骨、牡蛎を含む生薬等のCa<sup>2+</sup>およびMg<sup>2+</sup>を含有している漢方薬を同時に懸濁した場合、60分未満の短時間であれば影響は少ないと考えられる。しかし、60分以上同時懸濁放置した状態では、Ca<sup>2+</sup>

およびMg<sup>2+</sup>を含有している漢方薬とテトラサイクリン系抗菌剤およびキノロン系抗菌剤とキレートを形成する相互作用を引き起こし、抗菌効果が低下する可能性があると考えられた。今後、*in vivo*条件下でのこれらの漢方薬と金属カチオンの薬物間相互作用を解明していきたいと考えている。

## 謝 辞

本研究に際し、終始ご助言、ご協力をいただきました北陸大学名誉教授 宮本悦子氏に深謝いたします。

## 利益相反

利益相反(COI)に関して開示すべきものなし。

## 文 献

- 1) 日本漢方生薬製剤協会：漢方薬処方実態調査(定量)，2011年10月18日。http://www.nikkankyo.org/serv/pdf/jittaichousa2011.pdf, 2018年8月1日アクセス。
- 2) 本間真人：漢方薬成分の体内動態に及ぼす新薬の影響。日東洋医誌，2001；**51**：102-103。
- 3) Hitoshi K, Katoh M, Tanaka Y, Kurono S, Hotta K, Saito H, Hasegawa T, Nadai M: Mechanism of drug interaction between a Kampo medicine, byakkokaninjinto, and tetracycline in rats. *J Infect Chemother* 2012; **18**: 75-82.
- 4) 角田昌彦, 江川 孝, 勢島仁美, 勢島 充, 富永宏治, 片岡泰文, 首藤英樹：ニューキノロン系抗菌薬と青汁との相互作用。医療薬，2007；**33**：534-539。
- 5) Tanaka M, Kurata T, Fujisawa C, Ohshima Y, Aoki H, Okazaki O, Hakusui H: Mechanistic study of inhibition of levofloxacin absorption by aluminum hydroxide. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; **37**, 2173-2178.
- 6) Nakano M, Yamamoto M, Arita T: Interactions of aluminum, magnesium, and calcium ions with nalidixic acid. *Chem Pharm Bull* 1978; **26**: 1505-1510.
- 7) ツムラ：柴胡加竜骨牡蛎湯エキス顆粒インタビューフォーム2014.11(改訂第5版)。
- 8) ツムラ：桂枝加竜骨牡蛎湯エキス顆粒インタビューフォーム2013.3(改訂第3版)。
- 9) Ozyazgan S, Senses V, Ozuner Z, Akkan AG: Quantification of ofloxacin in biological fluids by high-performance liquid chromatography. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 1997; **8**: 73-79.
- 10) 三浦典正：漢方診療に役立つQ&A：漢方薬は食前に飲むのがいいか、食後に飲むのがいいか？治療，2009；**91**：1785-1786。
- 11) 第一三共：タリビッド錠100mgインタビューフォーム2016.12改訂(第15版)。
- 12) 三邊武彦, 戸嶋洋和, 龍 家圭, 小林義人, 近藤泰之, 小口勝司, 西村有希, 内田直樹, 岩瀬万里子, 張本敏江, 川上桃子, 小林真一：安中散短期投与のミダゾラム代謝に及ぼす影響。昭和学会誌，2013；**73**：67-75。
- 13) 西村信弘：漢方薬と西洋薬の消化管吸収過程における相互作用に関する研究。薬誌，2005；**125**：363-369。

## Fundamental Evaluation of Chelate Formation of Ofloxacin and Herbal Medicines Containing Metals in Simultaneous-suspension

Sachihiko Numajiri<sup>1</sup>, Jun Suzuki<sup>1</sup>, Masaki Kobayashi<sup>1</sup>, Takemitsu Furuchi<sup>1</sup>, Masaru Niitsu<sup>1</sup>, and Shigeo Akiyama<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Pharmaceutical Sciences, Josai University

<sup>2</sup> Center for Experiential Pharmacy Practice, Tokyo University of Pharmacy and Life Sciences

**Key words:** ofloxacin, Herbal Medicines, longgu, oyster shell, calcium, magnesium

We carried out an in vitro investigation of the interaction between ofloxacin, a quinolone antibacterial agent, and calcium present in longgu or oyster shells, which are the ingredients of two Herbal medicines, Saikokaryukotsuboreito and Keishikaryukotsuboreito extract granules. These Herbal medicines and ofloxacin were mixed and extracted using chloroform after 10, 60, and 120 min in order to determine the concentrations of the unchanged form of ofloxacin. The concentrations of unchanged form of ofloxacin decreased with simultaneous administration of one of these Herbal medicines. It was suggested that ofloxacin formed chelates with the calcium present in the Herbal medicines. The effectiveness of the antibacterial agent may have decreased due to drug interactions such as chelate formation between the quinolone antibacterial agent and calcium present in longgu or oyster shell, which are key constituents of the Herbal medicines.

(J Community Pharm Pharm Sci 2018; **10**: 246–251)